

Effekt akuter und chronischer Haloperidolbehandlung
auf die β -Endorphinspiegel in Gehirn, Hypophyse und
Plasma der Ratte und im Plasma und Liquor des Menschen

Michael Bergmann

1982



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548326_0037

Aus dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie München

Direktor: Prof. Dr. Detlef Ploog

Effekt akuter und chronischer Haloperidolbehandlung auf die
R-Endorphinspiegel in Gehirn, Hypophyse und Plasma der Ratte
und im Plasma und Liquor des Menschen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

an der Ludwig Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt von

Michael Bergmann

aus

Rosenheim

Jahr

1962

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter:	PROF. DR. A. HERZ
Mitberichterstatter:	PROF. DR. H. HIPPIUS
Dekan:	PROF. DR. W. SPANN
Tag der mündlichen Prüfung:	08. April 1982



INHALTSVERZEICHNIS

Seite

<u>1. Einleitung</u>	4
1.1. Endorphine- endogene Opiate	4
1.2. Lokalisation der Endorphine im Zentral- nervensystem	5
1.3. Einfluß von Neuroleptika auf die Opiat- aktivität im Zentralnervensystem	7
1.4. Problemstellung	8
 <u>2. Methoden</u>	 9
2.1. Behandlung von Ratten mit Haloperidol	9
2.2. Versuchspersonen	10
2.3. Gewinnung von Plasma und Liquor	10
2.4. Extraktion von β -Endorphin aus Plasma und Liquor	11
2.5. Gewebsextraktion von β -Endorphin	12
2.6. Prinzip der radioimmunologischen Bestim- mungsverfahren (Radioimmunoassay)	13
2.7. β -Endorphin-Radioimmunoassay	14
2.8. ACTH-Radioimmunoassay	17
2.9. Met-Enkephalin-Radioimmunoassay	17
2.10. Gelfiltration	18
2.11. Verwendete Substanzen	19
2.12. Statistisches Verfahren	20

	Seite
3. <u>Ergebnisse</u>	21
3.1. Wirkung akuter Haloperidol-Behandlung auf die Plasma- und Hypophysenspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin bei der Ratte	21
3.1.1. Dosis-Wirkungsbeziehung von immunoreak- tiven β -Endorphin im Plasma nach akuter Haloperidol-Behandlung	21
3.1.2. Zeitverlauf der Plasmaspiegel von immuno- reaktiven β -Endorphin nach akuter Halo- peridol-Behandlung	23
3.1.3. Konzentration von immunoreaktiven β -Endorphin im Hypophysenmittellappen und Hypophysenvorderlappen nach akuter Haloperidol-Behandlung	25
3.1.4. Trennung der immunoreaktiven Komponenten im Plasma mittels Gelfiltration	27
3.2. Wirkung chronischer Haloperidol-Behandlung auf die Spiegel von immunoreaktiven β -Endorphin in Hypophyse, Gehirn und Plasma von Ratten	29

3.2.1. Gelchromatographie von immunoreaktiven	31
β -Endorphin und immunoreaktiven ACTH im	
Hypophysenmittellappen von Ratten nach	
chronischer Haloperidol-Behandlung	
3.2.2. Gelchromatographische Trennung der immuno-	33
reaktiven Komponenten im Plasma nach	
chronischer Haloperidol-Behandlung von	
Ratten	
3.3. Plasmaspiegel von immunoreaktiven	35
β -Endorphin bei Schizophrenen unter	
chronischer Neuroleptikabehandlung	
3.4. Immunreaktives β -Endorphin im Liquor	37
von Schizophrenen im Vergleich zu Kon-	
trollpersonen	
4. <u>Diskussion</u>	42
4.1. Akute Haloperidol-Behandlung	42
4.2. Chronische Haloperidol-Behandlung	46
5. <u>Zusammenfassung</u>	51
6. <u>Literaturverzeichnis</u>	54

1. EINLEITUNG

1.1. Endorphine - endogene Opiate

Schon seit längerer Zeit wurde angenommen, daß Opiate ihre pharmakologischen Wirkungen durch die Besetzung von Rezeptoren im zentralen und peripheren Nervensystem ausüben. Erst kürzlich gelang es, diese postulierten spezifischen Opiatrezeptoren zu demonstrieren.

Drei Arbeitsgruppen konnten 1973 unabhängig voneinander in Bindungsstudien in vitro solche spezifischen Rezeptoren im Gehirn der Ratte nachweisen (26, 31, 32).

Da es unwahrscheinlich war, daß der Organismus Rezeptoren nur für körperfremde Liganden besitzt, lag es nahe zu vermuten, daß es endogene Substanzen geben müsse, mit denen diese Rezeptoren physiologischer Weise in Interaktion treten. In der Tat konnten 1975 aus Schweinegehirnen die Pentapeptide Methionin-Enkephalin (Met-Enkephalin) und Leucin-Enkephalin (Leu-Enkephalin) als erste endogene Liganden der Opiatrezeptoren isoliert werden (18).

Weitere längerkettige endogene Opiate wurden in der Hypophyse entdeckt, nämlich β -Endorphin, α -Endorphin und γ -Endorphin.

Die wichtigste dieser endogenen Substanzen ist das β -Endorphin (34). Alle bisher entdeckten endogenen Opiate, auch Endorphine genannt, sind Peptide, die zwischen fünf und einunddreißig Aminosäuren enthalten. Mit Ausnahme von Leu-Enkephalin sind sie alle Bruchstücke von β -Lipotropin, eines von Li zehn Jahre zuvor entdeckten Hypophysenhormons aus 91 Aminosäuren, welches selbst keine Opiataktivität besitzt (20).

1.2. Lokalisation der Endorphine im Zentralnervensystem

Die Verteilung der Opioid-Peptide wurde in immunohistochemischen und radioimmunologischen Studien nachgewiesen.

Die Enkephaline befinden sich in hoher Konzentration im Gehirn, hauptsächlich in den Basalganglien (Striatum). Auch innerhalb der Hypophyse kommen sie in hoher Konzentration im Mittellappen und Hinterlappen vor, dagegen kaum im Hypophysenvorderlappen (6). Im Gegensatz dazu konnten Bloom und Mitarbeiter (2) zeigen, daß das β -Endorphin der Ratte vor allem in der Hypophyse lokalisiert ist, und zwar sowohl im Hypophysenvorderlappen als auch im Hypophysenmittellappen. In geringen Mengen kommt es aber auch in Gehirnstrukturen wie dem Nucleus arcuatus, dem Septum, dem Nucleus amygdaleus und im Zentralen Höhlengrau vor.

Guillemin und Mitarbeiter (12) konnten feststellen, daß die Freisetzung und die Kontrollmechanismen für die Freisetzung von Adrenocorticotropin (ACTH) und β -Endorphin aus der Hypophyse gleich sind. Als Reaktion auf akuten Stress werden ACTH und β -Endorphin gleichzeitig aus der Hypophyse freigesetzt. Die Ausschüttung sowohl von β -Endorphin als auch von ACTH aus der Hypophyse ins Plasma war bei Ratten ohne Nebennieren erhöht. Dieser Effekt wurde durch die Gabe des Corticosteroids Dexamethason aufgehoben. Diese Befunde sprechen dafür, daß Cortisol mittels eines Rückkopplungsmechanismus nicht nur die Freisetzung von ACTH, sondern auch die von β -Endorphin aus der Hypophyse reguliert. Die gleichzeitige Erhöhung der Plasmaspiegel dieser Hormone wird dadurch erklärt, daß alle diese Peptide von einem gemeinsamen Vorläufermolekül (= Pro-opiomelanocortin) abstammen (21, 5), in den selben Vesikeln der Hypophysenzellen (41) und in den selben Neuronen im Gehirn (2, 40) lokalisiert sind.

Die Abbauege aus dem Pro-opiomelanocortin in die biologisch aktiven Peptide in der Hypophyse sind jedoch unterschiedlich. Im Hypophysenvorderlappen der Ratte werden hauptsächlich β -Lipotropin und ACTH, im Hypophysenmittellappen und im Gehirn

fast ausschließlich die kleineren Peptide β -Endorphin und α -Melanozyten-stimulierendes Hormon (α -MSH) gebildet (10). Obwohl die Aminosäuresequenz von Met-Enkephalin im β -Endorphin enthalten ist, besteht wenig Anhalt dafür, daß β -Endorphin das Vorläufermolekül für die Pentapeptide darstellt (2).

1.3. Einfluß von Neuroleptika auf die Opiataktivität im Zentralnervensystem

Frühere Studien haben gezeigt, daß die Neuroleptika die Ausschüttung der Peptide α -MSH und β -Endorphin aus der Hypophyse beeinflussen. Dopamin und Dopaminagonisten verhindern die Freisetzung von β -Endorphin und α -MSH aus isolierten Hypophysenmittellappen von Ratten - ein Effekt, der durch den Dopaminrezeptor-Antagonisten Haloperidol aufgehoben wird (27, 39, 37).

Akute Behandlung von Ratten mit Haloperidol führt zur Freisetzung von immunoreaktiven α -Melanozyten-stimulierendem Hormon (α -MSH), ACTH und β -Lipotropin aus der Hypophyse in die Blutbahn (36, 24, 25). Hong et al. (16) zeigten, daß chronische Behandlung mit Haloperidol und anderen Neuroleptika über einen Zeitraum von ein bis drei Wochen zu einem signifikanten Anstieg der Met-Enkephalin-Konzentration im Corpus striatum und im Nucleus accumbens von Ratten führt. Ebenso stellten sie fest, daß die erhöhten Spiegel

im Striatum auf eine beschleunigte Biosynthese des Peptids zurückzuführen sind. Außerdem wurde von einer erhöhten Freisetzung von Methionin-Enkephalin aus Gewebsschnitten aus dem Striatum chronisch mit Haloperidol behandelter Ratten berichtet (23). Im Gehirn von Ratten konnte ein signifikanter Anstieg der gesamten Opiataktivität nach chronischer Chlorpromazinbehandlung festgestellt werden (43).

Diese Befunde lassen es für möglich erscheinen, daß die therapeutische Wirkung der Neuroleptika bei schizophrenen Patienten über eine Änderung der endorphinergen Aktivität ausgeübt wird. Tatsächlich berichtet auch Terenius (33) über erhöhte Endorphinspiegel im Liquor Schizophrener, die sich nach Neuroleptikabehandlung normalisierten.

Die durch die Neuroleptika bewirkte Senkung der Endorphinspiegel im Liquor Schizophrener scheint in einem gewissen Widerspruch zu der Erhöhung der Met-Enkephalin-Aktivität im Rattengehirn zu stehen.

1.4. Problemstellung

In dieser Arbeit sollte versucht werden, die Frage zu beantworten, ob akute und chronische Haloperidol-Behandlung bei Ratten auch

die Aktivität des β -endorphinergen Systems im Gehirn und der Hypophyse, sowie die Freisetzung von β -Endorphin in die Blutbahn verändert.

Im Hinblick auf eine mögliche Implikation des endorphinergen Systems bei der neuroleptischen Behandlung von Schizophrenen wurde untersucht, ob chronische Neuroleptikabehandlung bei Schizophrenen die β -Endorphinspiegel im Plasma und im Liquor verändert.

2. METHODEN

2.1. Behandlung von Ratten mit Haloperidol

Männliche Sprague-Dawley Ratten (Gewicht: 200 - 300 g) wurden entweder akut oder chronisch i.p. mit Haloperidol injiziert. Im akuten Versuch applizierte man entweder eine konstante Dosis von 3 mg/kg Körpergewicht und tötete die Tiere nach 30; 60; 120 Minuten, oder man verabreichte steigende Dosen von Haloperidol (0,03 mg/kg; 0,1 mg/kg; 1,0 mg/kg; 3,0 mg/kg) und tötete die Tiere nach 30 Minuten.

Im chronischen Versuch injizierte man über einen Zeitraum von 21 Tagen täglich eine Haloperidoldosis von 1 mg/kg in einem

Volumen von 0,5 ml. Kontrolltiere bekamen 0,5 ml 0,9%-ige NaCl-Lösung nach dem selben Injektionsschema. Am 22. Tag wurden die Tiere getötet.

2.2. Versuchspersonen

Folgende Personen wurden in diese Studie einbezogen:

- a) Zwei schizophrene Patienten ohne Neuroleptikabehandlung
- b) dreizehn schizophrene Patienten, die über einen Zeitraum von 14 - 85 Tagen mit Haloperidol (24 mg/Tag per os) behandelt wurden
- c) zehn gesunde Kontrollpersonen.

2.3. Gewinnung von Plasma und Liquor

Die venöse Blutentnahme wurde zwischen 7³⁰ und 9⁰⁰ Uhr vorgenommen. Nach der Entnahme von 90 ml Blut brachte man jeweils 30 ml in Gefäße ein, die 30 mg EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure) enthielten und in einem Eis/Wasser-Gemisch gekühlt waren. Innerhalb von zehn Minuten wurde das Plasma in einer gekühlten Zentrifuge abgetrennt und bis zur Weiterverarbeitung bei -70° C eingefroren.

Die Lumbalpunktion zur Gewinnung des Liquor wurde morgens zwischen 9⁰⁰ und 11⁰⁰ Uhr vorgenommen. Die Liquorproben (2-4 ml bzw. 10ml) wurden sofort nach der Entnahme eingefroren und bis zur ihrer Verarbeitung bei -30° C aufbewahrt.

2.4. Extraktion von β -Endorphin aus Plasma und Liquor

Bei den Rattenversuchen wurde das unmittelbar nach der Dekapitation der Ratten abtropfende Blut in eisgekühlten Plastikgefäßen, die 10 mg EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure) enthielten, aufgefangen. Anschließend zentrifugierte man 15 Minuten lang mit 5 000 g bei 4° C, um das Plasma abzutrennen. Für die Extraktion wurden Plasmaproben von 8 bzw. 12 Ratten jeder Gruppe zu einem Endvolumen von jeweils 10 ml gemischt. Je 10 ml Plasma wurden in 15 ml/Glasgefäße (Corex) gegeben, welche 500 mg Kieselsäurepuder enthielten und kräftig geschüttelt. Nun zentrifugierte man die Suspension bei 10 000 g 15 Minuten lang. Der β -Endorphin-freie Überstand wurde für die Aufstellung der Standardkurve benutzt. Der β -Endorphin-enhaltende Niederschlag wurde mit 10 ml destilliertem Wasser zweimal gewaschen und wie oben beschrieben zentrifugiert. Anschließend wurde der Niederschlag nochmals mit 7 ml Diethyläther gewaschen und erneut zentrifugiert. Mit 7 ml eines Gemisches aus 20%-igem Aceton und 80%-iger 1,0 N HCL wurde dann innerhalb von zehn Minuten β -Endorphin von der Kieselsäure desorbiert. Den sauren Acetonextrakt goß man in 10 x 16 mm Glasgefäße. Er wurde tiefgefroren

und anschließend lyophilisiert. Der Rückstand wurde in 1,2 ml Standard-Puffer (=Puffer D nach Guillemin et al. (11)) aufgenommen und 1 ml davon über die Sephadex-Säule geschickt.

Den β -Endorphin-freien Plasmaüberstand teilte man in 5 ml Aliquots auf und extrahierte nach Zugabe von Standardmengen synthetischen β -Endorphins des Menschen in der selben Weise wie oben. Die Wiederfindungsrate für die Extraktion von β -Endorphin des Menschen beträgt 60 ± 5 %, die für β -Lipotropin 30 % (13, 14).

Die Liquorproben (2-4 ml) extrahierte und lyophilisierte man in der selben Weise. Die Liquorproben (je 10 ml) für die Säulenchromatographie wurden lyophilisiert, in 1,2 ml Standard-Puffer aufgenommen und 1 ml davon über die Sephadex-Säule geschickt.

2.5. Gewebsextraktion von β -Endorphin

Nach der Dekapitation der Ratte öffnete man den Schädel, entnahm das Gehirn und teilte es. Dabei wurden die Regionen herausgenommen, die die höchsten β -Endorphinkonzentrationen enthalten, nämlich Septum und Hypothalamus. Das über der Hypophyse liegende

Diaphragma sellae wurde zurückgezogen, die gesamte Hypophyse in situ unter dem Mikroskop in den Vorderlappen und Mittel-/Hinterlappen (Hinterlappen mit anhängendem Mittellappen) geteilt. Die Hypophysenlappen und Gehirnteile (Septum, Hypothalamus) wog man in tarierte 1,5 ml/Plastikgefäße auf ein Zehntel-Milligramm genau. Zu jedem Hypophysenvorderlappen und Hypophysen-Mittel/Hinterlappen und den oben genannten Gehirnteilen wurde 500 µl 0,1 N HCl dazugegeben. Die Proben wurden dann 15 Minuten lang bei 95° C inkubiert. Dieses Kochen von nicht homogenisiertem Gewebe ergibt höhere β -Endorphinwerte, da der enzymatische Abbau des Peptids weitgehend verhindert wird (29). Die Proben wurden dann homogenisiert und anschließend bei 10 000 g zentrifugiert. Den Überstand neutralisierte man mit NaOH auf pH 7,4. Nach geeigneter Verdünnung mit Standard-Puffer benutzte man entsprechende Aliquots für den Radioimmunoassay.

2.6. Prinzip der radioimmunologischen Bestimmungsverfahren (Radioimmunoassay)

Der Radioimmunoassay ist ein sehr empfindliches Meßverfahren, um sehr niedrige Konzentrationen einer Substanz quantitativ zu bestimmen. Voraussetzung ist die Herstellung eines spezifischen Antikörpers gegen die zu bestimmende Substanz.

...

Das Prinzip der Bestimmung basiert auf der Konkurrenz radioaktiv markierter und unmarkierter Antigene um ihren spezifischen Antikörper. Als Ergebnis dieser Konkurrenz nimmt die Radioaktivität des Antigen-Antikörper-Komplexes in gleicher Weise ab, wie die Konzentration des unmarkierten nachzuweisenden Antigens im Versuchsansatz zunimmt. Nach Trennung der freien von den Antikörper gebundenen Antigenen kann die gesuchte Konzentration über die Messung der Radioaktivität mit Hilfe einer gleichzeitig erstellten Eichkurve bestimmt werden.

2.7. β -Endorphin-Radioimmunoassay

Antikörper gegen β -Endorphin des Menschen (β_h -Endorphin) wurden mit an Rinderthymoglobulin gekoppeltem β_h -Endorphin als Immunogen in Kaninchen erzeugt, wie bei Höllt et al. (13) beschrieben.

Das Antiserum bindet in einer Verdünnung von 1:100 000 40% einer Spurenmenge ^{125}I - β_h -Endorphins (10 000 cpm entsprechen 4-8 fMol). Dieses wurde mit Hilfe der Chloramin-T-Methode iodiert und auf einer BioGel-P₄-Säule mit 0,1M Essigsäure gereinigt. Der Radioimmunoassay wurde in 1,5 ml Plastikgefäßen durchgeführt, die 250-300 μl Standard-Puffer (wie bei Guillemin et al. (11) beschrieben), 100 μl Antiserum (Titerverdünnung 1:20 000), 50 μl ^{125}I - β_h -Endorphin (in Standard-Puffer, der 0,1%-ige Triton-X-100 Lösung enthält) und 50-100 μl Standardmenge synthetischen β_h -Endorphins oder Proben enthielten. Die Inkubation erfolgte in einem

Endvolumen von 0,5 ml bei 5° C über einen Zeitraum von 12-14 Stunden. Die Trennung von gebundenem und freiem Hormon erfolgte mit Aktivkohle (Höllt et al. (13)). Das an Antikörper gebundene ^{125}I - β_{h} -Endorphin wurde dann in einem γ -Counter gezählt.

Spezifität des β -Endorphin-Radioimmunoassay

Wie Abbildung 1 zeigt, erkennt das Antiserum β -Endorphin mit einer hohen Affinität. (Die Nachweisgrenze des Radioimmunoassay liegt bei 3-5 fMol/Gefäß oder 15-25 fMol/ml Plasma). Es weist aber auch eine hohe Affinität zum β -Lipotropin des Menschen (β_{h} -Lipotropin) auf (Kreuzreaktivität 50% auf molarer Basis).

Andererseits zeigen Met-Enkephalin, α - und γ -Endorphin keine erkennbare Kreuzreaktivität. Dies bedeutet, daß eine wichtige Antigen-bestimmende Determinante im C-terminalen Ende des β -Endorphinmoleküls liegt. Synthetisches ACTH $_{1-17}$ -Amid, ACTH $_{1-27}$ -Amid, ACTH des Menschen (h-ACTH $_{1-39}$) verursachen keine Interferenz im Radioimmunoassay.

...

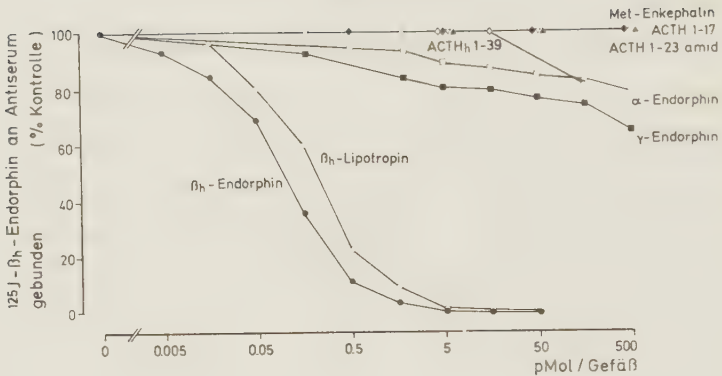


Abb 1: Affinität von β_h -Endorphin-Antiserum zu β_h -Endorphin, β_h -Lipotropin, α - und γ -Endorphin, Met-Enkephalin, ACTH₁₋₁₇, ACTH₁₋₂₃-Amid und ACTH₁₋₃₉ des Menschen. Die Kontrollbindung (%) repräsentiert die Bindung von 20pg 125 I- β_h -Endorphin an das Antiserum (1:100 000 verdünnt) in Abwesenheit von nicht markiertem β -Endorphin. Unter diesen Bedingungen wurden 40% der gesamten Radioaktivität gebunden. Jeder Punkt repräsentiert den Mittelwert zweier Experimente, die in Dreifachbestimmung durchgeführt wurden.

2.8. ACTH-Radioimmunoassay

Antiserum gegen ACTH wurde mit Hilfe von Thyreoglobulin-gebundenem synthetischen ACTH₁₋₂₃-Amid als Immunogen von Kaninchen gewonnen. Dieses Antiserum ist gegen den N-terminalen Teil des ACTH₁₋₂₃-Amid gerichtet, da es die selbe Affinität für h-ACTH₁₋₃₉ und α -MSH (N-Acetyl ACTH₁₋₁₃-Amid) besitzt, aber keine Affinität für ACTH₁₁₋₂₃ und ACTH₁₈₋₃₉.

β_h -Endorphin, β_h -Lipotropin und β -MSH zeigen nur eine zu vernachlässigende Affinität zu diesem Antiserum. Der Radioimmunoassay zur Bestimmung von ACTH/ α -MSH wurde wie von Gramsch et al. (10) beschrieben, durchgeführt.

Die Sensitivitätsgrenze des Assays liegt bei 2,5-5 fMol/Gefäß (= 5-10% Verdrängung von ^{125}I - β_h -ACTH vom Antikörper).

2.9. Met-Enkephalin-Radioimmunoassay

Zur Herstellung von Met-Enkephalin-Antikörpern in Ratten wurde Met-Enkephalin an Rinderglobulin gebunden, wie früher beschrieben (6). Das Met-Enkephalin-Antiserum erkennt Met-Enkephalin mit einer hohen Affinität (Sensitivitätsgrenze des Radioimmunoassay bei 50 fMol/Gefäß. Leucin-Enkephalin zeigt nur eine 0,25%-ige Kreuzreaktivität, während die Kreuzreaktivität der anderen β -Lipotropin-Bruchstücke zu vernachlässigen war.

2.10. Gelfiltration

Die gelchromatographischen Verfahren zählen zu den wirkungsvollsten Trennmethoden und sind auch für kleinste Substanzmengen anwendbar.

Bei der hier angewendeten Säulenchromatographie besteht die stationäre Phase aus polymerisierter Sepharose, welche in ein senkrecht stehendes Glasrohr eingefüllt wurde. Die Lösung, welche das Substanzgemisch enthält, wird durch diese Säule geschickt, wobei die verschiedenen Komponenten des Gemisches je nach ihrer Molekülgröße diese mit verschiedenen Geschwindigkeiten passieren. Die dadurch getrennten Komponenten eluieren in verschiedenen Fraktionen aus der Säule heraus, wobei die größeren Moleküle schneller als die kleineren eluieren.

Um die β -Endorphin-immunoreaktiven Komponenten (β -Endorphin bzw. β -Lipotropin) und die ACTH-immunoreaktiven Komponenten (ACTH bzw. α -MSH) zu trennen, wurde eine Gelfiltration durchgeführt. Die Säule wurde mit Dextran-Blau (als Marker für das Leervolumen), β_h -Endorphin, h-ACTH₁₋₃₉ und α -MSH geeicht. Die Wiederfindungsrate der über die Säule geschickten Peptide lag bei mehr als 95%.

Die Säule wurde mit Standard-Puffer (Guillemin et al. (11)) äquiliibriert. Die lyophilisierten Plasmaextrakte und die lyophilisierten 10 ml-Liquorproben löste man in 1,2 ml Standard-Puffer auf und schickte 1 ml über die Säule. Gleiche Aliquots der Extrakte von 17 Hypophysenmittellappen wurden gemischt und in geeigneter Verdünnung mit Standard-Puffer ebenfalls einer Säulenchromatographie unterzogen.

Die Proben wurden bei einer Flußrate von 5 ml/Stunde bei 6° C eluiert.

Man sammelte 0,9 ml-Fractionen. Zwei 0,35 ml Aliquots jeder Fraktion der Plasmaextrakte wurden auf immunreaktives β -Endorphin untersucht. Je zwei 0,2 ml Aliquots jeder Fraktion der Hypophysenextrakte wurden auf immunreaktives β -Endorphin bzw. immunreaktives ACTH untersucht.

2.11. Verwendete Substanzen

Haloperidol wurde von der Firma Janssen Pharmaceutica Beerse, Belgien, bezogen.

β_{h} -Lipotropin wurde von Dr.C.H.Li, San Francisco, USA, zur Verfügung gestellt.

β_h -Endorphin, α -Endorphin, γ -Endorphin, Met-Enkephalin wurden von Peninsula, San Carlos, USA, erhalten.

h-ACTH₁₋₃₉, α -MSH, β -MSH wurden von Dr. Rittel, Ciba Geigy AG, Basel, Schweiz, erhalten.

ACTH₁₁₋₂₃, ACTH₁₋₁₇ und h-ACTH₁₈₋₃₉ wurden von Dr. Geiger, Hoechst, Frankfurt, bezogen.

¹²⁵Iod wurde von der Firma Amersham Buchler, Braunschweig, bezogen.

Die für den Radioimmunoassay benutzten Chemikalien waren von der Firma Sigma, Taufkirchen.

2.12. Statistisches Verfahren

Die errechneten Mittelwerte wurden mit denen der Kontrollgruppe verglichen, sowie die Signifikanz etwaiger Unterschiede beurteilt.

Als Vergleichsverfahren diente der t-Test für unverbundene Stichproben nach STUDENT.

Die Abweichung der Mittelwerte der behandelten Ratten bzw. Menschen von denen der Kontrollgruppe wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 5% ($p < 0,05$) als statistisch signifikant bewertet.

7. ERGEBNISSE

3.1. Wirkung akuter Haloperidol-Behandlung auf die Plasma- und Hypophysenspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin bei der Ratte

3.1.1. Dosis-Wirkungsbeziehung von immunoreaktiven β -Endorphin im Plasma nach akuter Haloperidol-Behandlung

Abbildung 2 zeigt die β -Endorphinspiegel im Plasma 30 Minuten nach intraperitonealer Injektion von Ratten mit steigenden Haloperidoldosen.

Wie man aus dem Vergleich zu den mit Kochsalzlösung injizierten Kontrollratten ersehen kann, ergab sich ein dosisabhängiger Anstieg der Plasmaspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin, der bei einer Dosis von 0,1 mg/kg Haloperidol signifikant wurde.

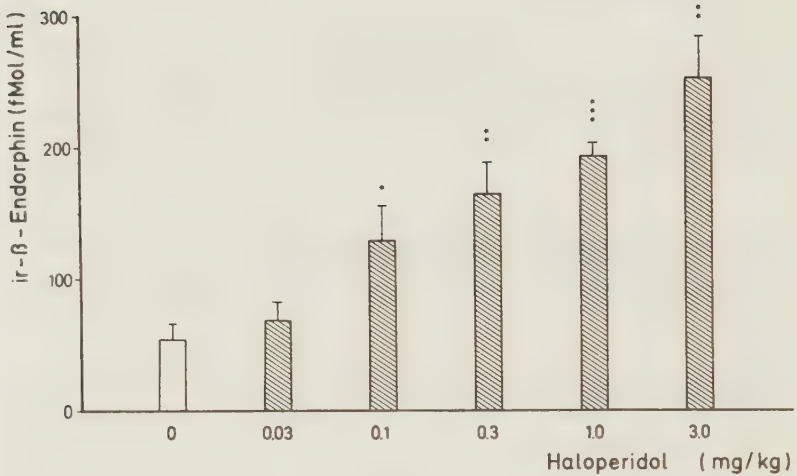


Abb 2: Immunoreaktives β -Endorphin im Plasma von Ratten 30 Minuten nach i.p. Injektion steigender Haloperidoldosen (schraffierte Säulen) oder Kochsalzlösung (nicht schraffierte Säulen). Immunoreaktives β -Endorphin wurde wie im Abschnitt Methoden beschrieben, gemessen.

Mittelwert $\pm$ Standardabweichung von je acht Ratten * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (Student's t-Test). Die Werte sind ausgedrückt in β_h -Endorphin-Äquivalenten. β_h -Endorphin = β -Endorphin des Menschen.

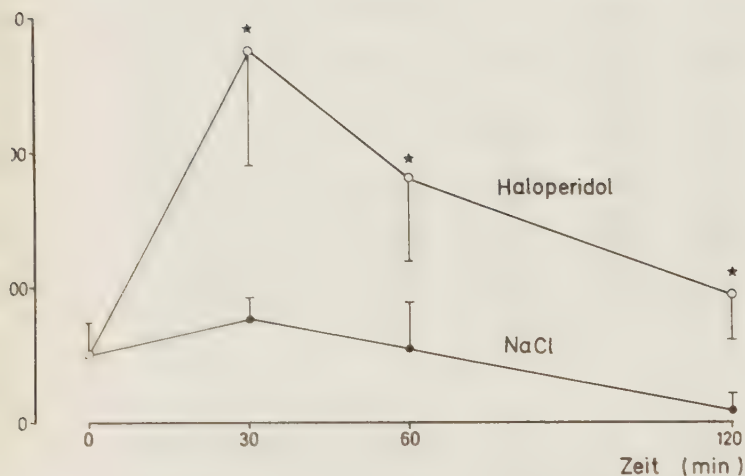
...

3.1.2. Zeitverlauf der Plasmaspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin nach akuter Haloperidol-Behandlung

Abbildung 3 zeigt den Zeitverlauf der Plasmaspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin nach Injektion einer hohen Dosis von 3 mg/kg Haloperidol.

Die höchsten Werte von immunoreaktiven β -Endorphin im Plasma sieht man 30 Minuten nach der Injektion. Noch nach 120 Minuten findet man signifikant erhöhte Werte von immunoreaktiven β -Endorphin im Vergleich zu den Tieren, die mit 0,9%-iger NaCl-Lösung injiziert wurden.

Dieser Zeitverlauf von immunoreaktiven β -Endorphin im Plasma steht in interessanter Übereinstimmung mit den Befunden für α -MSH im Plasma nach akuter Haloperidolbehandlung (24).



3: Zeitverlauf von immunreaktiven β -Endorphin im Plasma von Ratten nach i.p. Injektion von Haloperidol (3 mg/kg) (offene Kreise) bzw. 0,9%-iger NaCl-Lösung (ausgefüllte Kreise). Immunreaktives β -Endorphin wurde mit dem Radioimmunoassay gemessen, wie im methodischen Teil beschrieben.

Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung von acht Ratten. * $p < 0,02$ (Student's t-Test). Die Werte sind ausgedrückt in β_h -Endorphin-Äquivalenten. β_h -Endorphin = β -Endorphin des Menschen.

3.1.3. Konzentration von immunoreaktiven β -Endorphin im Hypophysen-
mittellappen und im Hypophysenvorderlappen nach akuter Haloperidol-
Behandlung

Es stellte sich nun die Frage, ob diese erhöhten β -Endorphin-
spiegel im Plasma nach akuter Haloperidol-Behandlung auch von
einer Veränderung der β -Endorphinkonzentration in der Hypophyse
begleitet sind.

Abbildung 4 (a, b) zeigt die Konzentration von immunoreaktiven
 β -Endorphin im Hypophysenvorderlappen und im Hypophysenmittel-
lappen der selben Ratten.

Wie aus den Abbildungen hervorgeht, kommt es in beiden Hypophysen-
lappen zu keinem signifikanten Abfall des immunoreaktiven β -Endor-
phin der mit Haloperidol behandelten Tiere im Vergleich zu den
Kontrolltieren nach 30, 60 und 120 Minuten.

...

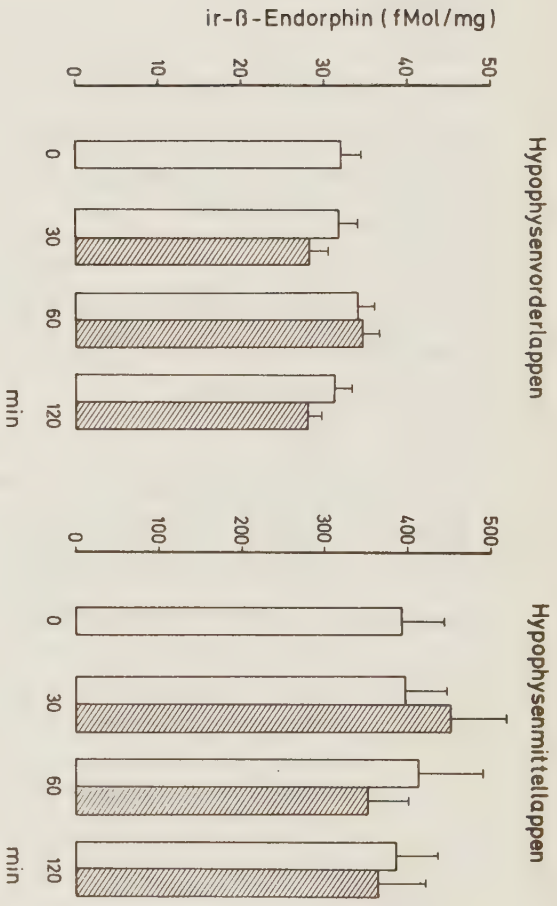


Abb 4 (a, b): Immunoreaktives β -Endorphin (ir- β -Endorphin) im Hypophysenvorderlappen und im Hypophysenhinterlappen von Ratten 30, 60, 120 Minuten nach i.p.-Injektion von 3 mg/kg Haloperidol (schraffierte Säulen) bzw. 0,9%-ige NaCl-Lösung (nicht schraffierte Säulen).

3.1.4. Trennung der immunoreaktiven Komponenten im Plasma mittels Gelfiltration

Infolge der im Abschnitt Methoden beschriebenen Kreuzreaktivität des Antiserums für β -Endorphin und β -Lipotropin wurden die immunoreaktiven Komponenten im Plasma mittels Gelfiltration getrennt. Abbildung 5 vergleicht die Trennungsprofile der immunoreaktiven Komponenten nach der Gelfiltration von Rattenplasma. Die Tiere wurden 30 Minuten zuvor mit 3 mg/kg Haloperidol bzw. 0,9%-iger NaCl-Lösung injiziert.

Es können drei immunoreaktive Komponenten mit verschiedenem Molekulargewicht beobachtet werden. Das immunoreaktive Material mit dem kleinsten Molekulargewicht eluiert wie β_h -Endorphin-Standard. Die nächst-größere Komponente eluiert etwas später als β_h -Lipotropin und scheint identisch mit dem β -Lipotropin der Ratte zu sein, welches ein Molekulargewicht von ca. 8200 aufweist. Die Komponente mit dem höchsten Molekulargewicht eluiert nach dem Leervolumen der Säule. Bei diesem Material könnte es sich um den gemeinsamen Vorläufer für β -Endorphin und ACTH handeln, der ein Molekulargewicht von ca. 30 000 besitzt (21). Es besteht kein wesentlicher qualitativer Unterschied im Verteilungsprofil der immunoreaktiven Komponenten im Plasma zwischen den mit Haloperidol behandelten Ratten und den mit 0,9%-iger NaCl-Lösung injizierten Tieren.

Akute Haloperidol-Behandlung scheint zu einem parallel verlaufenden Anstieg aller drei immunoreaktiven Komponenten im Plasma zu führen.

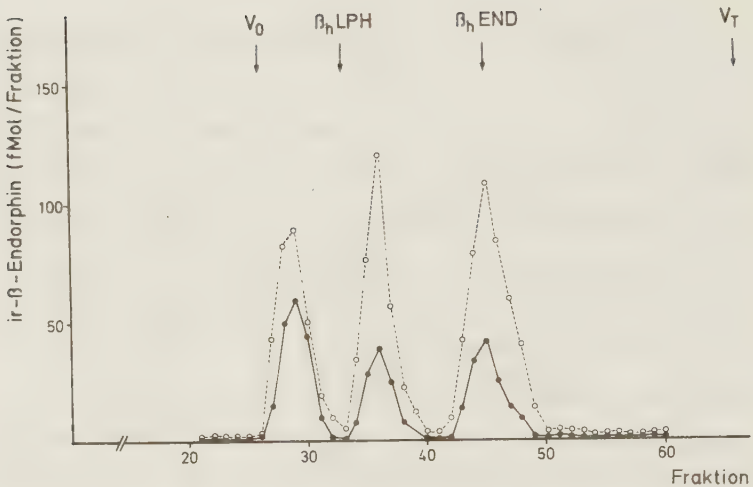


Abb 5: Trennung der immunreaktiven Komponenten im Rattenplasma durch Gelfiltration. 10 ml gepooltes Plasma von acht Ratten, die 30 Minuten vorher mit 3 mg/kg Haloperidol (offene Kreise) bzw. mit 0,9%-iger NaCl-Lösung (ausgefüllte Kreise) injiziert worden waren, wurde wie im methodischen Teil beschrieben, extrahiert. 1 ml Aliquots der in Standard-Puffer aufgelösten Extrakte wurden über die Sephadex-G-50-Säule geschickt. Immunreaktives β -Endorphin (ir- β -Endorphin) wurde wie im methodischen Teil beschrieben, mit dem Radioimmunoassay bestimmt. V_0 = Leervolumen; β_h -LPH = β -Lipotropin des Menschen; β_h -END = β -Endorphin des Menschen; V_T = Totalvolumen. Die Werte sind ausgedrückt als β_h -Endorphin-Äquivalente und nicht bezüglich der Wiederfindungsrate korrigiert.

...

3.2. Wirkung chronischer Haloperidol-Behandlung auf die Spiegel von immunoreaktiven β -Endorphin in Hypophyse, Gehirn und Plasma von Ratten

Im Gegensatz zur akuten Behandlung bewirkt eine Langzeitbehandlung mit Haloperidol (1 mg/kg/Tag) über einen Zeitraum von drei Wochen signifikant erhöhte Spiegel von immunoreaktiven β -Endorphin im Hypophysenmittellappen (um 60 %), im Hypothalamus (um 30 %) und im Septum (um 45 %) (siehe Tabelle 1).

Die Spiegel von immunoreaktiven β -Endorphin im Hypophysenvorderlappen bleiben dagegen unverändert.

Ebenso wie nach akuter Haloperidol-Behandlung werden erhöhte Spiegel von immunoreaktiven β -Endorphin im Plasma beobachtet.

Der starke Anstieg der Spiegel (um 100 %) von immunoreaktiven Met-Enkephalin nach chronischer Haloperidol-Behandlung ist in Übereinstimmung mit den Befunden von Hong et al. (16).

Auch immunoreaktives ACTH wurde in der Hypophyse bestimmt. Wie für immunoreaktives β -Endorphin führt chronische Haloperidol-Behandlung auch für immunoreaktives ACTH im Hypophysenmittellappen zu einem signifikanten Anstieg um 60 % ohne die Spiegel von immunoreaktiven ACTH im Hypophysenvorderlappen zu verändern.

Tabelle 1: Konzentration von immunoreaktiven β -Endorphin, ACTH und Met-Enkephalin in Hypophyse, Gehirn und Plasma von Ratten nach chronischer Haloperidol-Behandlung bzw. Gabe von 0,2%-iger NaCl-Lösung

	Hypophysenvorder- lappen HVL -nMol/g	Hypophysenhinter- lappen HML -nMol/g	Hypothalamus -pMol/g	Septum pMol/g	Striatum pMol/g	Plasma -fMol/ml
β -Endorphin						
Kontrolle	35,9 $\pm$ 1,00(17)	367 $\pm$ 29,9(17)	33,5 $\pm$ 3,7(17)	13,0 $\pm$ 1,00(12)		35,8 $\pm$ 8,3(12)
Haloperidol	33,7 $\pm$ 1,00(20)	580 $\pm$ 21,5(20)**	44,5 $\pm$ 2,1(20)*	18,2 $\pm$ 1,00(20)*		60,2 $\pm$ 11,6(12)*
ACTH						
Kontrolle	31,7 $\pm$ 2,2(17)	424 $\pm$ 29,8(17)				
Haloperidol	32,9 $\pm$ 1,3(20)	653 $\pm$ 35,7(20)**				
Kontrolle						
Met-Enkephalin						
Haloperidol					784 $\pm$ 56,3(12)	
					1502 $\pm$ 121(12)**	

Legende zu Tabelle 1

Hypophyse, Gehirnteile und Plasma werden behandelt und auf immuno-reaktives β -Endorphin, ACTH und Met-Enkephalin wie im methodischen Teil beschrieben, untersucht.

Die Immunoreaktivität wurde ausgedrückt in nMol β_h -Endorphin, bzw. h-ACTH-Äquivalente pro Gramm Gewicht für die Hypophysen, in pMol/g für die Gehirnteile und in fMol/ml für das Plasma. Die Werte repräsentieren Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung. Die Anzahl der Ratten ist in Klammern angegeben. Dreifachbestimmungen der einzelnen Gehirnteile, Hypophysenlappen und Plasmaproben. β_h -Endorphin, h-ACTH = β -Endorphin bzw. ACTH des Menschen. * $p < 0,02$; ** $p < 0,005$ (Student's t-Test).

3.2.1. Gelchromatographie von immunoreaktiven β -Endorphin und immuno-reaktiven ACTH im Hypophysenmittellappen von Ratten nach chronischer Haloperidol-Behandlung

Aufgrund der im Abschnitt Methoden angesprochenen Kreuzreaktivität des Antiserums mit β -Endorphin und β -Lipotropin bzw. ACTH und α -MSH wurde eine gelchromatographische Analyse der immunoreaktiven Komponenten im Hypophysenmittellappen durchgeführt.

In Abbildung 6 sind die chromatographischen Profile von immunoreaktiven β -Endorphin und immunoreaktiven ACTH im Hypophysenmittellappen von Ratten dargestellt, die entweder chronisch mit Haloperidol behandelt wurden oder mit 0,9%-iger NaCl-Lösung. Wie man sieht, eluiert das gesamte immunoreaktive β -Endorphin gleichzeitig mit β_h -Endorphin-Standard, während das gesamte immunoreaktive ACTH gleichzeitig mit α -MSH-Standard von der Säule eluiert. Der Spiegel beider Peptide ist nach chronischer Haloperidol-Behandlung erhöht.

...

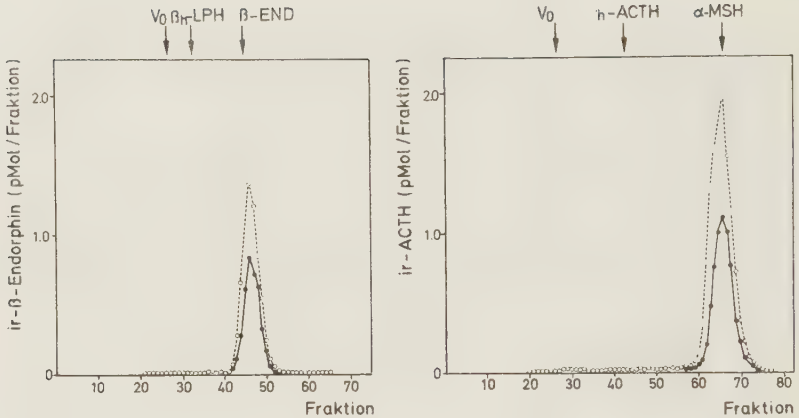


Abb 6: Trennung von Hypophysenmittellappen-Extrakten auf einer Sephadex-G-50-superfein-Säule.

Hypophysenmittellappen von Ratten, die entweder mit Haloperidol (1 mg/kg/Tag) über einen Zeitraum von 21 Tagen (offene Kreise) oder mit 0,9%-iger NaCl-Lösung (ausgefüllte Kreise) behandelt wurden, wurden wie im Abschnitt Methoden beschrieben, extrahiert. Aliquots der Extrakte von 17 Hypophysenmittellappen wurden gepoolt und einer Gelfiltration auf einer Sephadex-G-50-Säule unterzogen.

Von jeder Fraktion wurden 0,2 ml-Aliquots in Doppelansätzen jeweils auf immunoreaktives β -Endorphin und immunoreaktives ACTH untersucht, wie im methodischen Teil beschrieben.

...

Die Werte sind ausgedrückt in pMol β_h -Endorphin- bzw. h-ACTH Äquivalenten.

V_o = Leervolumen der Säule; β_h -LPH = β -Lipotropin des Menschen;
 β_h -END = β -Endorphin des Menschen; h-ACTH = ACTH₁₋₃₉ des Menschen; α -MSH = Melanozyten-stimulierendes Hormon.

3.2.2. Gelchromatographische Trennung der immunoreaktiven Komponenten im Plasma nach chronischer Haloperidol-Behandlung von Ratten

Abbildung 7 zeigt die gelchromatographische Trennung der immunoreaktiven β -Endorphin-Komponenten im Plasma von Ratten, die entweder chronisch mit Haloperidol oder mit 0,9%-iger NaCl-Lösung behandelt wurden.

Wieder kann man drei immunoreaktive Komponenten unterscheiden, die in den selben Fraktionen eluieren, wie in Abbildung 5 dargestellt.

Chronische Haloperidol-Behandlung erhöht die Konzentration aller drei Komponenten im Plasma in ähnlichem Ausmaß.

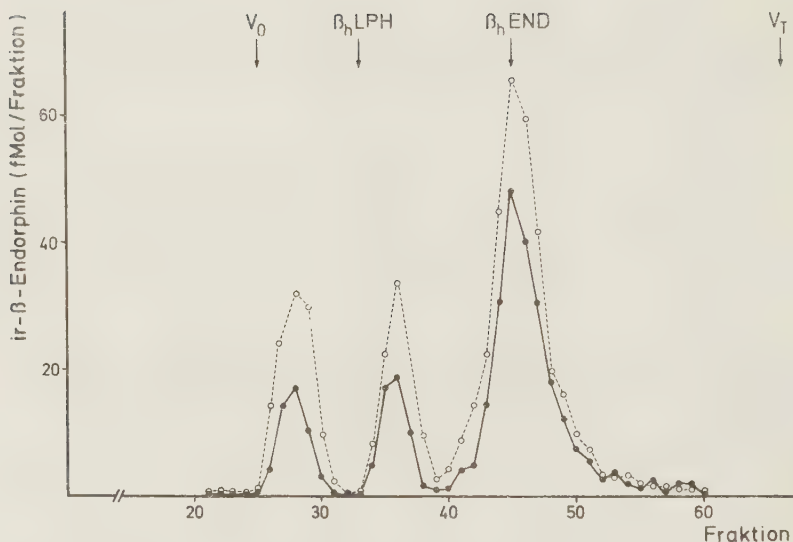


Abb. 7: Abbildung 7 stellt die Trennung der immunoreaktiven Komponenten im Rattenplasma durch Gelfiltration dar.

Gepooltes Plasma von je 12 Ratten, die entweder mit Halo-peridol (1 mg/kg/Tag) (offene Kreise), oder 0,9%-iger NaCl-Lösung (ausgefüllte Kreise) über einen Zeitraum von 21 Tagen behandelt worden waren, wurde extrahiert und mittels Gelfiltration wie in der Legende zu Abbildung 5 beschrieben, analysiert.

V_0 = Leervolumen; β_h -LPH = β -Lipotropin des Menschen; β_h -END = β -Endorphin des Menschen; V_T = Totalvolumen. Die Werte sind ausgedrückt als β_h -Endorphin-Äquivalente und nicht bezüglich der Wiederfindungsrate korrigiert.

3.3. Plasmaspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin bei Schizophrenen unter chronischer Neuroleptikabehandlung

Es wurde untersucht, ob in Analogie zu den Befunden bei der Ratte auch bei schizophrenen Patienten unter neuroleptischer Behandlung ein Anstieg der β -Endorphinspiegel im Plasma auftritt.

Abbildung 8 stellt die β -Endorphinspiegel im Plasma dar. Die unschraffierten Säulen zeigen die Konzentration von immunoreaktiven β -Endorphin vor neuroleptischer Therapie, die schraffierten Säulen die nach neuroleptischer Behandlung. Auf der rechten Seite der Abbildung 8 ist der mittlere β -Endorphinspiegel von zehn gesunden Kontrollpersonen abgebildet. Wie man sehen kann, sind die β -Endorphinspiegel vor neuroleptischer Therapie nahezu alle in dem Bereich, wie er bei Normalpersonen gefunden wurde. Nach neuroleptischer Behandlung ist in einigen Fällen ein Anstieg des immunoreaktiven β -Endorphin festzustellen.

In zwei Fällen (ER, FR) war der Anstieg von immunoreaktiven β -Endorphin nach neuroleptischer Therapie deutlich. In diesen Fällen wurde die Neuroleptika-Therapie über einen langen Zeitraum (40 bzw. 85 Tage) mit einer hohen Dosis (24 mg/Tag per os) durchgeführt.

In Analogie zu den Befunden bei der Ratte zeigt sich nach chronischer Behandlung mit Neuroleptika eine Tendenz zu erhöhten Plasmaspiegeln von immunoreaktiven β -Endorphin.

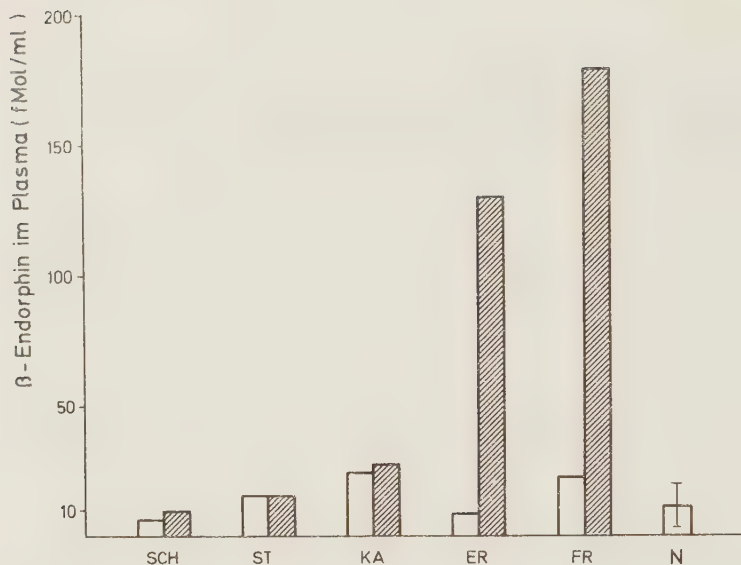


Abb. 8: β -Endorphin im Plasma von schizophrenen Patienten vor (nicht schraffierte Säulen) und während (schraffierte Säulen) Behandlung mit Neuroleptika (24 mg Haloperidol/Tag per os über einen Zeitraum von 14-85 Tagen).
N = Mittelwert von zehn Normalpersonen $\pm$ Standardabweichung.

immunoreaktives β -Endorphin im Liquor von Schizophrenen
gleich zu Kontrollpersonen

erhöhten β -Endorphinspiegel von Ratten in der Hypophyse
Gehirn ließen eine analoge Erhöhung von β -Endorphin
irn bzw. im Liquor neuroleptisch behandelter Menschen
en.

ung 9 zeigt die Liquorspiegel von immunreaktiven
rphin Schizophrener, die mit Neuroleptika behandelt
im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen.

wegen der hohen Streuung keine signifikanten Unterschiede
stellen sind, zeigt sich eine deutliche Tendenz zu erhöhten
rphinwerten im Liquor behandelter Schizophrener (Mittel-
1,4 fMol/ml gegenüber 8 fMol/ml bei den Kontrollpersonen,
).

Tendenz zu erhöhten β -Endorphinspiegeln im Liquor von be-
ten Schizophrenen könnte durch die Neuroleptika verursacht
. Andererseits berichtet Terenius von erhöhten Liquorspie-
ei unbehandelten Schizophrenen, die nach neuroleptischer
lung abnahmen.

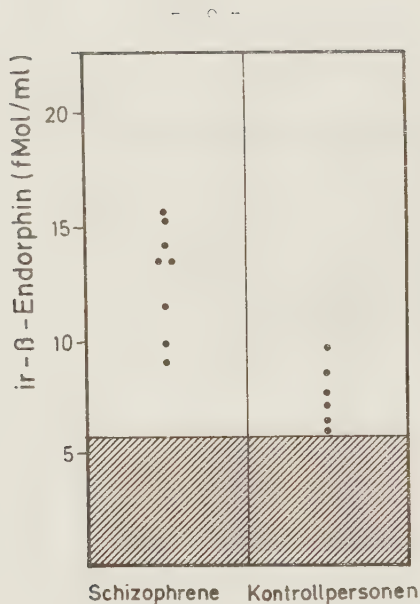


Abb. 9: Immunoreaktives β -Endorphin im Liquor von acht Schizophrenen, die mit 24 mg Haloperidol/Tag per os über einen Zeitraum von 14-85 Tagen behandelt wurden und sechs gesunden Kontrollpersonen.

Die unter der Nachweisgrenze liegende Zone ist schraffiert.

...

Es war deshalb wichtig zu untersuchen, ob sich die Liquor-spiegel von immunoreaktiven β -Endorphin bei unbehandelten Schizophrenen von denen bei Normalpersonen unterscheiden.

Um auch festzustellen, ob sich die einzelnen immunoreaktiven Komponenten in ihrem Verhältnis zueinander unterscheiden, wurde eine gelchromatographische Analyse durchgeführt. Die Schwierigkeit, Liquor in größeren Mengen für die Gelfiltration von unbehandelten schizophrenen Patienten bzw. Normalpersonen zu erhalten, erforderte eine Sammelaktion über einen längeren Zeitraum, der die Dauer dieser Doktorarbeit überschreitet. Daher konnte immunreaktives β -Endorphin erst in je zwei Liquorproben bestimmt werden.

Abbildung 10 zeigt die gelchromatographische Trennung von immunoreaktiven β -Endorphin in je 10 ml Liquor von zwei gesunden Kontrollpersonen (a, b) und zwei schizophrenen Patienten (c, d).

Man kann drei verschiedene immunreaktive β -Endorphin-Komponenten erkennen. Zwei davon eluieren genau gleichzeitig mit synthetischem β_h -Endorphin und β_h -Lipotropin. Der größte Teil des immunoreaktiven Materials scheint einem größeren Molekül

zu entsprechen, welches kurz nach dem Leervolumen (V_0) der Säule eluiert. Diese Komponente könnte dem Vorläufermolekül von β -Lipotropin und β -Endorphin entsprechen (21), oder an Plasmaproteine gebundenes β -Endorphin bzw. β -Lipotropin darstellen.

Anhand dieses Profils kann man sehen, daß das Verhältnis von β -Endorphin, β -Lipotropin und der höhermolekularen immuno-reaktiven Komponente bei Schizophrenen und gesunden Normalpersonen sehr ähnlich ist. Weiterhin scheinen die absoluten Werte von β -Endorphin annähernd gleich zu sein.

...

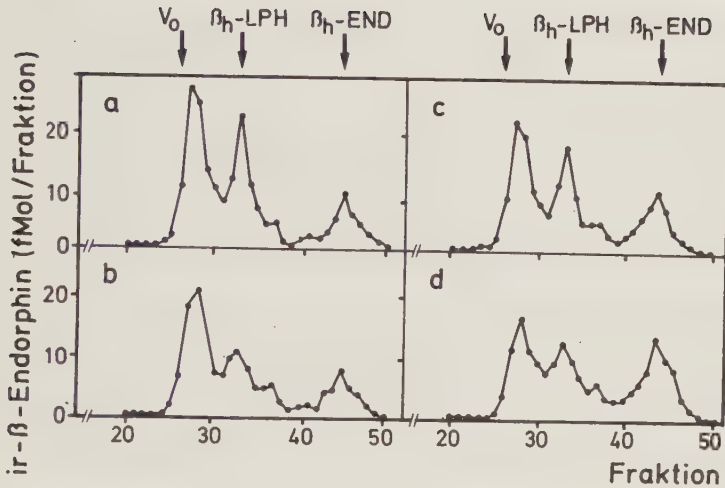


Abb. 10: Gelchromatographische Trennung von immunoreaktiven β -Endorphin (ir- β -Endorphin) in je 10 ml Liquor von zwei unbehandelten Schizophrenen (c, d) und zwei gesunden Kontrollpersonen (a, b).

V_0 = Leervolumen der Säule; β_h -LPH = β -Lipotropin des Menschen; β_h -END = β -Endorphin des Menschen

...

4. DISKUSSION

4.1. Akute Haloperidol-Behandlung

Die erhobenen Befunde zeigen, daß akute Haloperidol-Behandlung von Ratten zu einer dosisabhängigen Freisetzung von immunoreaktiven β -Endorphin aus der Hypophyse in die Blutbahn führt.

Erhöhte Plasmaspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin wurden über einen Zeitraum von zwei Stunden nach i.p.-Injektion von 3 mg/kg Haloperidol beobachtet, wobei die höchsten Werte nach 30 Minuten festgestellt wurden. Ein ähnlicher Zeitverlauf der durch Haloperidol verursachten Erhöhung der Plasmaspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin wurde kürzlich von Giraud et al. (9), berichtet. Die Konzentration von immunoreaktiven β -Endorphin im Hypophysenvorderlappen sowie im Hypophysenmittellappen der Ratte ändert sich dagegen innerhalb zwei Stunden nach der Haloperidol-Injektion nicht. Dies deutet darauf hin, daß entweder die Freisetzung von immunoreaktiven β -Endorphin aus der Hypophyse zu gering ist, um einen meßbaren Abfall der Peptidspeicher in der Hypophyse zu bewirken, oder es findet eine schnelle Neusynthese des freigesetzten immunoreaktiven β -Endorphins statt. Eine ähnliche Beobachtung wurde von Penny und Thody (24)

für α -MSH gemacht. Sie fanden keine Änderung des α -MSH-Gehalts im Hypophysenmittellappen von Ratten 30 Minuten nach Injektion von 1 mg Haloperidol/Ratte trotz deutlich erhöhtem α -MSH-Spiegel im Plasma. Die Trennung der immunreaktiven Komponenten im Plasma zeigt, daß Haloperidol nicht nur einen Anstieg des immunreaktiven Materials mit der Molekülgröße von β -Endorphin bewirkt, sondern auch von immunreaktivem Material, mit einer etwas kleineren Molekülgröße als β_h -Lipotropin (β -Lipotropin des Menschen). Diese Substanz könnte β -Lipotropin der Ratte repräsentieren, welches kleiner als β_h -Lipotropin ist (7).

Außerdem wird nach akuter Haloperidol-Behandlung ein Anstieg einer Komponente beobachtet, die ein noch höheres Molekulargewicht besitzt und kurz nach dem Leervolumen (V_0) von der Säule eluiert. Diese immunreaktive Komponente könnte entweder ein Vorläufermolekül von β -Endorphin repräsentieren oder an Plasmaprotein gebundenem β -Endorphin oder β -Lipotropin entsprechen. Das β -Lipotropin im Plasma scheint aus dem Hypophysenvorderlappen freigesetzt zu werden, da gezeigt wurde, daß das immunreaktive β -Endorphin im Hypophysenvorderlappen aus β -Lipotropin und β -Endorphin besteht, wobei β -Lipotropin das vorherrschende Peptid ist (Verhältnis β -Lipotropin/ β -Endorphin 2:1 $\rightarrow$ 1:1;) (10).

Im Gegensatz dazu repräsentiert das immunoreaktive β -Endorphin im Hypophysenmittellappen ausschließlich β -Endorphin, während β -Lipotropin dort kaum vorkommt.

Inkorporationsstudien mit radioaktiv markierten Aminosäuren von isolierten Hypophysenzellen in vitro zeigten, daß das gemeinsame Vorläufermolekül für ACTH und β -Endorphin im Hypophysenvorderlappen überwiegend enzymatisch in ACTH und β -Lipotropin gespalten wird (21), während nur kleine Mengen zu β -Endorphin weiter abgebaut werden. Im Gegensatz dazu wird in den Zellen des Hypophysenmittellappens das Vorläufermolekül vollständig in die kleineren Fragmente β -Endorphin und α -MSH gespalten (15, 21).

Der erhöhte Plasmaspiegel von β -Lipotropin nach akuter Haloperidol-Behandlung zeigt, daß Neuroleptika zumindest teilweise die Freisetzung von immunoreaktiven β -Endorphin aus dem Hypophysenvorderlappen bewirken. Diese Annahme wird durch frühere Befunde bei Ratten gestützt, bei welchen Haloperidol und andere Neuroleptika zu einem Anstieg der Plasmaspiegel von ACTH und β -Lipotropin führten (9, 24, 42).

Beide Peptide sind im Hypophysenmittellappen kaum vorhanden.

Ferner wurde berichtet, daß Vorbehandlung von Ratten mit Dexamethason, welches selektiv die Freisetzung (und die Biosynthese) von ACTH, β -Lipotropin/ β -Endorphin aus dem Hypophysenvorderlappen, nicht jedoch aus dem Hypophysenmittellappen, hemmt, den von Haloperidol verursachten Anstieg von immunoreaktiven β -Endorphin und ACTH im Plasma verhindert (9).

Andererseits gibt es Befunde, die zeigen, daß α -MSH aus dem Hypophysenmittellappen freigesetzt wird, nach Behandlung von Ratten mit Haloperidol und anderen Neuroleptika (24). Da α -MSH und β -Endorphin Fragmente des selben Vorläufermoleküls sind (21) und in den selben Vesikeln der Hypophysenmittellappen-Zellen lokalisiert sind (22), könnte man eine gleichzeitige Freisetzung beider Peptide als Antwort auf bestimmte pharmakologische Reize erwarten.

Es gibt Befunde, die zeigen, daß die Freisetzung beider Peptide aus dem Hypophysenmittellappen unter inhibitorischer Kontrolle von dopaminergen Neuronen aus dem Hypothalamus steht (27, 35, 39). In vitro Studien haben gezeigt, daß die Freisetzung von β -Endorphin und α -MSH aus isolierten Hypophysenmittellappen durch Dopaminrezeptor-Agonisten gehemmt werden kann (3, 27, 35).

Es ist deshalb anzunehmen, daß die erhöhten Plasmaspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin bei Ratten nach akuter Behandlung mit Haloperidol aus einer Freisetzung von β -Endorphin sowohl aus dem Hypophysenvorderlappen (zusammen mit β -Lipotropin und ACTH) als auch aus dem Hypophysenmittellappen (zusammen mit α -MSH) resultieren.

4.2. Chronische Haloperidol-Behandlung

Die Plasmaspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin sind auch nach chronischer Haloperidol-Behandlung von Ratten (1 mg/kg/Tag) über einen Zeitraum von 21 Tagen erhöht.

Dieser Befund zeigt, daß bezüglich des Effekts chronischer Haloperidol-Behandlung auf die Freisetzung von β -Endorphin aus der Hypophyse sich keine Toleranz entwickelt.

Ähnliche Beobachtungen wurden für Prolaktin gemacht. Hyperprolaktinämie bei Ratten, welche mit Haloperidol behandelt wurden, wurde noch nach 30-tägiger Behandlung festgestellt (30).

Andererseits entwickelte sich sehr schnell eine Toleranz gegenüber dem Effekt von Haloperidol auf den Dopaminstoffwechsel im Striatum (19). Diese unterschiedliche Toleranz-Entwicklung

scheint Unterschiede zwischen der Regulation der dopaminergen Neuronen im tuberoinfundibulären und im nigrostriären System widerzuspiegeln (1).

Im Gegensatz zur akuten Behandlung führt chronische Behandlung mit Haloperidol zu einer Erhöhung von immunoreaktiven β -Endorphin und ACTH im Hypophysenmittellappen um 60%, ohne die Spiegel im Hypophysenvorderlappen zu verändern.

Die Gelfiltration der immunoreaktiven Komponenten im Hypophysenmittellappen zeigte, daß chronische Haloperidolbehandlung ausschließlich zu einer Konzentrationserhöhung des immunoreaktiven Materials führt, welches der Molekülgröße von β -Endorphin und α -MSH entspricht. Isolierte Hypophysenmittellappen von Ratten, die chronisch mit Haloperidol behandelt wurden, zeigten eine signifikant höhere Freisetzung von immunoreaktiven β -Endorphin in das Inkubationsmedium, als die von Kontrollratten, welche mit 0,9%-iger NaCl-Lösung injiziert wurden (Höllt, nicht veröffentlichte Ergebnisse).

Die erhöhten Spiegel von immunoreaktiven β -Endorphin im Hypophysenmittellappen bei gleichzeitig gesteigerter Freisetzung des Peptids spricht dafür, daß chronische Haloperidol-Behandlung die Biosynthese von immunoreaktiven β -Endorphin in den Hypophysenmittel-

lappenzellen der Ratte steigert. Tatsächlich konnten wir vor kurzem durch Inkorporationsstudien mit radioaktiv markierten Aminosäuren von isolierten Hypophysenmittellappen von Ratten, die mit Haloperidol behandelt worden waren, zeigen, daß die Biosynthese des Vorläufermoleküls von β -Endorphin durch chronische Behandlung um 60-100% gesteigert wird, ohne die Abbaurate des Vorläuferproteins zu verändern (15).

Jüngste Untersuchungen in unserem Laboratorium liefern einen starken Anhalt dafür, daß chronische Behandlung von Ratten mit Haloperidol und anderen Neuroleptika zu einem Anstieg der messenger-RNA-Aktivität im Hypophysenmittellappen führt, welche das Vorläuferprotein von β -Endorphin codiert (Höllt, in Vorbereitung).

Die gesteigerte Biosynthese von β -Endorphin im Hypophysenmittellappen, nicht aber im Hypophysenvorderlappen, nach chronischer Behandlung mit Haloperidol konnte eine selektive Freisetzung des Peptids aus dem Hypophysenmittellappen in die Blutbahn vermuten lassen. Die Gelfiltration der immunoreaktiven Komponenten im Plasma der chronisch mit Haloperidol behandelten Ratten zeigte jedoch auch erhöhte β -Lipotropin-Spiegel.

...

Dieser Befund zeigt, daß chronische Behandlung zumindest teilweise auch zu einer Freisetzung von immunoreaktiven β -Endorphin (β -Lipotropin und β -Endorphin betreffend) aus dem Hypophysenvorderlappen führt. Diese Annahme wird gestützt durch die Ergebnisse mit schizophrenen Patienten, bei denen nach chronischer Neuroleptikabehandlung erhöhte Plasmaspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin festgestellt wurden (siehe Abb. 8). (Immunreaktives β -Endorphin im Plasma von Menschen wird aus dem Hypophysenvorderlappen freigesetzt, da die Hypophyse des Menschen keinen Hypophysenmittellappen besitzt.)

Erhöhte Spiegel von immunoreaktiven β -Endorphin nach chronischer Neuroleptikabehandlung läßt eine Studie vermuten, die zeigt, daß es nach chronischer Neuroleptikabehandlung bei Schizophrenen zu einer erhöhten Freisetzung von ACTH kommt (4).

Nach Langzeitbehandlung mit Haloperidol bei Ratten kommt es außer im Hypophysenmittellappen auch zu einem signifikanten Anstieg von immunoreaktiven β -Endorphin im Hypothalamus, wo die β -Endorphin produzierenden Zellen im Nucleus arcuatus lokalisiert sind und im Septum, einer Gehirnregion, welche ausschließlich Fasern von endorphinergen Neuronen enthält (2).

...

Man kann annehmen, daß die erhöhten Spiegel von immunoreaktiven β -Endorphin nach chronischer Haloperidol-Behandlung im Gehirn wie im Hypophysenmittellappen aus einer gesteigerten Biosynthese dieses Peptids resultieren.

Diese Befunde zeigen, daß chronische Haloperidol-Behandlung bei Ratten nicht nur zu erhöhten Spiegeln von Met-Enkephalin im corpus striatum und Nucleus accumbens führt, wie früher von Hong et al. (16) berichtet, sondern auch die Spiegel von β -Endorphin im Hypothalamus, im Septum und im Hypophysenmittellappen erhöht, was möglicherweise eine erhöhte Aktivität des β -endorphinerger Systems widerspiegelt. Der Effekt chronischer Neuroleptikabehandlung in Richtung auf eine Erhöhung der Spiegel zweier verschiedener endorphinerger Systeme könnte darauf hindeuten, daß die therapeutische Wirkung von Neuroleptika bei Schizophrenen über eine Veränderung der endogenen Opiatspiegel zustande kommt. Eine zentrale Rolle der Endorphine in der Pathogenese der Schizophrenie scheint jedoch unwahrscheinlich, da die Behandlung von Schizophrenen, die chronisch mit Neuroleptika behandelt wurden, mit dem Opiatantagonisten Naloxon zu keiner wesentlichen Veränderung der Krankheitssymptome führte (8).

In einer Reihe von Experimenten, bei denen Schizophrenen Naloxon verabreicht wurde, zeigte sich entweder keine Wirkung oder - besonders bei hohen Naloxondosen - sogar eine Tendenz, die Krankheitssymptome abzuschwächen.

ZUSAMMENFASSUNG

Es war Aufgabe der vorliegenden Arbeit, den Einfluß akuter und chronischer Haloperidol-Behandlung auf die Spiegel von β -Endorphin, eines endogenen Peptids mit opiatartiger Wirkung, im Gehirn, in der Hypophyse und im Plasma von Ratten zu bestimmen.

Weiterhin wurde β -Endorphin bei Schizophrenen vor und nach neuroleptischer Behandlung im Plasma und im Liquor bestimmt.

Haloperidol, ein Dopamin-Antagonist, welcher intraperitoneal (i.p.) in Ratten injiziert wurde, erhöhte die Plasmaspiegel von β -Endorphin in Dosen, höher als 0,3 mg. Die Plasmaspiegel von β -Endorphin waren 30 Minuten nach Injektion von 3 mg/kg Haloperidol maximal und noch zwei Stunden nach Injektion signifikant erhöht. Während dieser Zeit wurde jedoch keine Änderung der Konzentration von β -Endorphin im Hypophysenvorderlappen und Hypophysenmittellappen beobachtet.

Auch nach chronischer Behandlung mit Haloperidol (1 mg/kg/Tag) über einen Zeitraum von drei Wochen blieben die Plasmaspiegel von β -Endorphin erhöht. Bei diesen Tieren bewirkte die chronische Behandlung mit Haloperidol (1 mg/kg/Tag über einen Zeitraum von drei Wochen) einen Anstieg der β -Endorphin-Konzentration im Hypo-

physenmittellappen um 60-80%, ohne die Konzentration im Hypophysenvorderlappen zu verändern. Signifikant erhöhte Spiegel von β -Endorphin wurden bei diesen Tieren auch in bestimmten Regionen des Gehirns, wie im Hypothalamus und im Septum, gefunden.

Immunoreaktives β -Endorphin wurde mit einem radioimmunologischen Verfahren gemessen. Das im Radioimmunoassay verwendete Antiserum erkennt auch das größere Peptid β -Lipotropin, welches keine Opiataktivität besitzt. Deshalb wurden die immunoreaktiven Komponenten mittels Gelfiltration analysiert.

Es zeigte sich, daß sowohl akute als auch chronische Behandlung mit Haloperidol zu einem Anstieg der Plasmakonzentration von immunoreaktivem Material führte, welches sowohl der Molekülgröße von β -Endorphin als auch der von β -Lipotropin entspricht.

In einer anderen Serie von Experimenten wurde gezeigt, daß eine chronische Neuroleptikabehandlung bei Schizophrenen zu einem Anstieg der Plasmaspiegel von immunoreaktiven β -Endorphin führt.

Eine Tendenz zu erhöhten β -Endorphinwerten zeigte sich auch im Liquor von Schizophrenen, die chronisch mit Neuroleptika behandelt wurden. Dieser Effekt war jedoch nicht signifikant. Im Liquor

von unbehandelten Schizophrenen wurden andererseits keine substantiellen quantitativen und qualitativen Veränderungen der β -Endorphin-immunoreaktiven Komponenten (β -Lipotropin und β -Endorphin) im Vergleich zu denen von Normalpersonen beobachtet.

Aus diesen Befunden läßt sich folgern, daß Neuroleptikabehandlung die Aktivität des β -endorphinergeren Systems bei Ratte und Mensch steigern kann.

Die Möglichkeit, daß der therapeutische Einfluß der Neuroleptikabehandlung bei Schizophrenen über eine erhöhte Aktivität der Endorphine vermittelt wird, wird diskutiert.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) - Annunziato, L. (1979). Regulation of the tuberoinfundibular and nigrostriatal systems. *Neuroendocrinology* 29, 66-76.
- 2) - Bloom F., Battenberg, E., Rossier, J., Ling, N. and Guillemin, R. (1978). Neurons containing β -endorphin in rat brain exists separately from those containing enkephalin: immunocytochemical studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75: 1591-1595.
- 3) - Bower, A., Hadley, M.E. and Hruby, V.I. (1974). Biogenic amines and control of melanophore stimulating hormones release. *Science* 184: 70-72.
- 4) - Brambilla, F., Guerrini, A., Guastalla, A., Rovese, C. and Riggi, F. (1975). Neuroendocrine effects of haloperidol therapy in chronic schizophrenia. *Psychopharmacologia (Berl.)* 44: 17-22.
- 5) - Crine, P., Gossard, F., Seidah, N.G., Blanchette, L., Lis, M., Chreti n, M., 1979. Concomitant synthesis of β -endorphin and α -melanotropin from two forms of pro-opiomelanocortin in the rat pars intermedia. *Procl. Natl. Acad. Sci. USA* 76, 5085.

- 6) - Duka, Th., Höllt, V., Przwełocki, R. and Wesche, D. (1978). Distribution of methionine and leucine-enkephalin within the rat pituitary gland measured by highly specific radio-immunoassays. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 85: 1119-1127.
- 7) - Eipper, B.A. and Mains, R.E. (1979). Characterization of mouse tumor cell β -Lipotropin. *J. Biol. Chem.* 254: 10190-10199.
- 8) - Emrich, H.M., Höllt, V., Bergmann, M., Kissling, W., Schmid, W., v. Zerssen, D. and Herz, A. (1980). Plasma levels of β -endorphin in schizophrenic patients: Failure of naloxone to counteract curative effects of neuroleptic drugs. In: *Neural Peptides and Neuronal Communications* (Costa, E. and Trabucchi, M., Eds.) pp. 489-502. Raven Press, New York.
- 9) - Giraud, P., Lissitzky, I.C., Conte-Devolx, B., Gillioz, P. and Oliver, C. (1980). Influence of haloperidol on ACTH and β -endorphin secretion in the rat. *Europ. J. Pharmacol.* 62: 215-217.
- 10) - Gramsch, Ch., Kleber, G., Höllt, V., Pasi, A., Mehraein, P. and Herz, A. (1980). Pro-opiocortin fragments in human and rat brain: β -endorphin and α -MSH are the predominant peptides. *Brain Res.* 192: 109-119.

- 11) - Guillemin, R., Ling, N. and Vargo, T. (1977). Radio-immunoassay for α -endorphin and β -endorphin. Biochem. Biophys. Res. Commun. 77: 361-366.
- 12) - Guillemin, R., Vargo, T., Rossier, J., Minick, S., Ling, N., Rivier, C., Vale, W., Bloom, F.: β -endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland Science 197: 1367-1369 (1977).
- 13) - Höllt, V., Przwełocki, R., and Herz, A.: Radioimmunoassay of β -endorphin: basal and stimulated levels in extracted rat plasma. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 303, 171-174 (1978).
- 14) - Höllt, V., Gramsch, Ch. and Herz, A.: Immunoassay of β -endorphin. In: Radioimmunoassay of Drugs and Hormones in Cardiovascular Medicine, A. Albertini, M. Da Prada and B.A.Pes (eds.) pp. 239-307, Elsevier/North Holland, Biochemical Press, Amsterdam (1979).
- 15) - Höllt, V., Przwełocki, R., Bergmann, M., Haarmann, M., and Duka, Th.: Increased biosynthesis of β -endorphin in the pars intermedia of rat pituitaries after long-term treatments with haloperidol. In: Endogenous and exogenous opiate agonists and antagonists, E.L. (ed) Pergamon Press pp. 325-328, New York (1980).

- 16) - Hong, I.S., Yang, H.Y., Fratta, W. and Costa, E.:
Rat striatal methionine-enkephaline content after chronic
treatment with cataleptogenic and noncataleptogenic anti-
schizophrenic drugs. I.Pharmacol. exp. Ther. 205, 141-147
(1978).
- 17) - Hong, I.S., Yang, H.Y., Gillin, I.C., di Guilio, A.M.,
Fratta, W. and Costa, E.: Chronic treatment with haloperi-
dol accelerates the biosynthesis of enkephalins in rat
striatum. Brain Research 160, 192-195 (1979).
- 18) - Hughes, I., Smith, T., Morgan, B., Fothergill, L.:
Purification and properties of enkephalin-the possible
endogenous ligand for the morphine receptor. Life Sci.
16, 1753-1760 (1975).
- 19) - Lerner, P., Nosé, P., Gordon, E.K. and Lovenberg, W. (1977).
Haloperidol: Effect of long-term treatment on rat striatal
dopamine synthesis and turnover. Science 197, 181-183.
- 20) - Li, C.H., Chung, D.: Primary structure of human β -lipotropin.
Nature Vol. 260 (1976).

- 21) - Mains, R.E., Eipper, B.A., and Ling, N.: Common precursor to corticotropin and endorphins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 3014-3018 (1977).
- 22) - Martin, R., Weber, E. and Voigt, K.H. (1979). Localization of corticotropin- and endorphin-related peptides in the intermediate lobe of the rat pituitary. Cell Tissue Res. 196: 307-319.
- 23) - Osborne, H. and Herz, A.: K+-evoked release of met-enkephalin from rat striatum in vitro: Effect of putative neurotransmitters and morphine. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 310, 203-209 (1980).
- 24) - Penny, R.I., Thody, A.J.: An improved radioimmunoassay for α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) in the rat. Serum and pituitary α -MSH levels after drugs which modify catecholaminergic neurotransmission. Neuroendocrinology, 25, 193-203 (1978).
- 25) - Penny, R.I., Thody, A.J. and Shuster, S.: Development of radioimmunoassays for lipotropins in the rat. I. Endocrinol. 80, 3P-4P (1979).

- 26) - Pert, C.B., Snyder, S.H.: Opiate receptor: Demonstration in nervous tissue, *Science* 179, 1011-1014 (1973 a).
- 27) - Przwełocki, Ch., Höllt, V. and Herz, A.: Substance modulating the release of β -endorphin-like immunoreactivity (β -ELI) from rat pituitary in vitro. In: Characteristics and Functions of opioids. I. van Ree and L. Terenius (eds) pp. 285-286 Elsevier (North Holland, Biomedical Press, Amsterdam (1978).
- 28) - Przwełocki, R., Gramsch, Ch., Höllt, V., Millan, M.J., Osborne, H. and Herz, A.: The distribution and release of β -endorphin in relation to certain possible functions. In: Neuropeptides and Neurotransmission, C.A. Mavson and W.Z. Traczyk (eds) pp. 245-256, Raven Press, New York (1980).
- 29) - Rossier, J.R., Vargo, T.M., Minick, S., Ling, N., Bloom, F.E., Guillemin, R.: Regional dissociation of β -endorphin and enkephalin contents in rat brain and pituitary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 5126-5165 (1977).

...

- 30) - Scapagnini, N., Rizza, V., Drago, F., Canonico, L.,
Pellegrini-Quarantotti, B., Ragusa, N., Clementi, G.,
Prato, A., Marchetti, B. and Gessa, G.L. (1980). Prolactin
effects on the brain. In: Central and Peripheral Regulation
of Prolactin Function (MacLeod, R.M. and Scapagnini, N., Eds.)
pp. 293-309. Raven Press, New York.
- 31) - Simon, E.J., Hiller, J.M., Edelman, J.: Stereospecific
binding of the potent narcotic analgesic ^3H -etorphine
to rat brain homogenate. Proc. nat. Acad. Sci. 70,
1947-1949 (1973).
- 32) - Terenius, L.: Characteristics of the "receptor" for narcotic
analgesics in synaptic plasma membrane fraction from rat
brain. Acta pharmacol. 32, 377-384 (1973).
- 33) - Terenius, L., Wahlström, A., Lindström, L., and Widerlöv,
E.: Increased CSF levels of endorphins in chronic psychosis.
Neurosci. Lett. 3, 157-162 (1976).
- 34) - Teschemacher, H.J., Opheim, K.E., Cox, B.M., Goldstein,
A.: A peptide-like substance from pituitary that acts
like morphine. Isolation, Life Science 16, 1771-1776 (1975).

- 35) - Tilders, F.I.H. and Smelik, P.G.: Direct control of MSH-secretion in mammals: The involvement of dopaminergic tubero-hypophyseal neurones. In: Melanocyte Stimulating Hormone: Control, Chemistry and Effects. F.J.H. Tilders, D.F. Swaat and T.B. van Wimersma Greidanus (eds) Front. Hormone Res. 4, pp. 80-93 Karger, Basel 1977.
- 36) - Usategui, R., Oliver, Ch., Vaudry, Lombardi, J., Rozenberg, J. and Mourre, A.M.: Immunoreactive α -MSH and ACTH levels in rat plasma and pituitary. Endocrinol. 98, 189-196 (1976).
- 37) - Vale, W., Rivier, J., Guillemin, R. and Rivier, C. (1979). Effects of purified CRF and other substances on the secretion of ACTH and of β -endorphin-like immunoreactivity by cultured anterior or neurointermediate pituitary cells. In: Central Nervous System Effects of Hypothalamic Hormones Collu et al., Eds.) pp. 163-176. Raven Press, New York.
- 38) - Verebey, K., Volavka, J. and Clounet, D. (1978): Endorphins in psychiatry, Archs gen.Psychiatry 35: 877-888.

- 39) - Vermes, J., Mulder, G.H., Smelik, P.G. and Tilders F.J.H.:
Differential control of β -endorphin/ β -lipotropin secretion
from anterior and intermediate lobes of the rat pituitary
gland in vitro. Life Sci. 27, 1761-1768 (1980).
- 40) - Watson, S.J., Akil, H., Richard, C.W., Barchas, J.D.:
Evidence for two separate opiate peptide neuronal system.
Nature 275: 226-228 (1978).
- 41) - Weber, E., Voigt, V.H. and Martin, R.: Concomitant storage
of ACTH and endorphin-like immunoreactivity in the secre-
tory granules of anterior pituitary corticotrophs, Brain
Research, 157, 385-390 (1978).
- 42) - De Wied, D.: Chloropromazine and endocrine function, Pharma-
col. Reviews 19, 251-288 (1967).
- 43) - Wise, C.D. and Stein, L.: Brain endorphin levels increase
after long-term chloropromazine treatment. In: Endorphins
in Mental Health, E. Usdin, W.E. Bunney jr. and N.S. Kline
(eds), pp. 115-118. Macmillan Press, London (1979).

Danksagung

Herrn Professor Dr.med. Albert Herz danke ich für die Überlassung des Themas und für das freundliche Entgegenkommen.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr.med. Volker Höllt für die bereitwillige Unterstützung bei auftauchenden Problemen.

Außerdem gilt mein Dank Frau Ursula Bäuerle für die Anfertigung der graphischen Darstellungen.

L e b e n s l a u f

Ich, Michael Bergmann, wurde am 13.11.1952 als zweites Kind der Eheleute Marianne und Dr. Alfred Bergmann in Rosenheim geboren.

Volksschule von 1958 bis 1962 in Rosenheim.

Besuch des Ignaz-Günther-Gymnasium (humanistisch/neusprachlich) in Rosenheim.

Reifeprüfung im Mai 1971.

Studium der Chemie/Biologie an der Ludwig-Maximilian-Universität von 1972 bis 1976.

Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilian-Universität ab dem Sommersemester 1976.

Physikum im März 1977.

Nach Abschluß des 8. klinischen Semesters medizinisches Staatsexamen, abgelegt im Mai 1981.

